

근치적 전립샘적출술을 시행한 699예의 전립샘암종에서 신경내분비 분화가 예후에 미치는 영향

강태훈 · 신 은 · 김백희 · 최기영

서울대학교 의과대학 병리학교실
분당서울대학교병원 병리과

The Prognostic Significance of Neuroendocrine Differentiation for Treating Prostatic Carcinoma in 699 Cases of Radical Prostatectomy

Tae Hoon Kang, Eun Shin, Baek-Hee Kim and Gheeyoung Choe

Department of Pathology, Seoul National University Bundang Hospital, Seoul National University College of Medicine, Seongnam, Korea

Background : Neuroendocrine differentiation of prostatic carcinoma is known to be associated with a poor prognosis, tumor progression and androgen-independency, and there is currently no successful therapy for this type of tumor. The purpose of this study is to evaluate the prognostic implications of neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma in Korean men. **Methods :** Six hundreds and ninety nine consecutive cases of radical prostatectomy specimens were systematically processed for topographic mapping. Neuroendocrine differentiation was detected by immunohistochemistry by using antibody to chromogranin. We analyzed the relationship between neuroendocrine differentiation and the clinicopathological prognostic factors, as well as biochemical failure. The neuroendocrine differentiation was evaluated according to the presence of chromogranin-positive cells, the pattern of neuroendocrine cells and the number of neuroendocrine cells, respectively. **Results :** Neuroendocrine differentiation was detected in 150 out of 699 cases (21.5%). The presence of neuroendocrine differentiation as well as the pattern of neuroendocrine cells was correlated with biochemical failure and the other clinicopathological prognostic factors such as the Gleason score, the pathologic stage, the tumor volume, angiolymphatic invasion, perineural invasion, and the Ki-67 proliferative index ($p < 0.05$). **Conclusions :** We suggest that neuroendocrine differentiation of prostatic carcinoma is a prognostic factor even in radical prostatectomy specimens for localized prostate cancer. Evaluation of the presence of neuroendocrine differentiation as well as the pattern of neuroendocrine cells is recommended in radical prostatectomy specimens.

Key Words : Prostate; Carcinoma; Neuroendocrine tumor; Chromogranin; Prognosis

접 수 : 2008년 9월 18일
게재승인 : 2008년 10월 27일

책임저자 : 최 기 영
우 463-707 경기도 성남시 분당구 구미동
300 분당서울대학교병원 병리과
전화: 031-787-7711
Fax: 031-787-4012
E-mail: gychoe@snu.ac.kr

*이 논문은 분당서울대학교병원 일반연구비에 의해 이루어진 것임(02-2007-012).

전립샘암은 국내에서 가장 급격하게 증가하고 있는 암 중 하나로, 사망률 또한 급격하게 증가하고 있다. 통계청에서 최근 발표한 2007년 사망원인 통계에 따르면, 전립샘암에 의한 사망은 인구 10만 명당 4.5명으로, 1997년 1.5명에서 10년 만에 사망률이 3배나 증가하였다. 남녀를 모두 합쳐도 폐암, 대장암, 췌장암에 이어 네 번째로 사망률이 많이 증가한 암으로 조사되었다.¹

1941년 Huggins 등이 전이성 전립샘암 환자에서 양측 고환 적출술을 실시함으로 약 80%에서 유의한 증상 호전이 있었다고 보고하여 전립샘암종 세포의 증식에 남성 호르몬이 핵심적 역할을 담당하고 있다는 것을 증명한 이후, 지금까지 남성호르몬 차단요법이 진행된 전립샘암종의 일차적 치료법으로 이용되고 있다. 그러나 이러한 증상 호전은 일시적이어서 대개 12-16

개월 정도 유지되며,² 대부분의 환자에서 남성호르몬 비의존성 종양 세포(androgen-independent cancer cells)가 급속하게 성장하여 약 과반수는 종양 재발 후 1년 이내에 사망하게 되고, 나머지 환자들도 2년 이내에 거의 사망하게 된다.³ 현재까지 효과적인 치료법이 개발되지 않은 남성 호르몬 비의존성 전립샘암종에서 신경내분비 분화가 결정적인 역할을 한다는 사실이 알려지면서, 전립샘암종의 신경내분비 분화에 대한 관심이 증가하고 있다.⁴

최근 신경내분비세포가 전립샘암종의 분화도, 병기, 진행 및 예후에 영향을 미친다는⁴⁻⁷ 연구 결과가 연달아 보고됨에 따라 전립샘암종에서 신경내분비 분화의 중요성이 강조되고 있다. 신경내분비세포는 정상 전립샘을 구성하는 세포 중 하나로 전립샘

암종의 30-100%에서 발견되는 것으로 보고되고 있는데,^{5,8,9} 신경내분비세포가 발현하면 나쁜 분화, 높은 병기, 암종의 진행 및 불량한 예후와 관련이 있다고 보고되고 있다. 특히 신경내분비세포 분화를 보이는 전립샘암종은 호르몬 치료에 저항하는 특성을 가지고 있는데, 이는 신경내분비세포에 기저세포 상피와 같이 안드로겐 수용체가 존재하지 않아 안드로겐에 의한 세포 증식을 하지 않기 때문으로 알려져 있다.^{10,11}

통상적으로 근치적 전립샘 적출술을 받은 환자에게서 수술의 완전성을 평가하고, 재발이나 전이를 예측하기 위해서 혈청 전립샘 특이항원(prostate-specific antigen, PSA)을 연속적으로 측정한다. 근치적 전립샘 적출술을 받은 후 혈청 전립샘 특이항원은 0.1 ng/mL 이하로 떨어져 정상화되어야 한다. 이때 전립샘 특이항원은 혈청 반감기가 2.6일 정도라서 근치적 전립샘 적출술을 받은 환자는 혈청 전립샘 특이항원이 2주나 4주 내에 정상화되어야 하는데, 수술 후 혈청 전립샘 특이항원이 지속적으로 정상화되지 않는다는 것은 종양이 완전히 제거되지 않았다는 것을 의미하고, 정상화된 후 다시 상승하는 것은 종양의 재발이나 전이를 의미하므로 호르몬 치료나 방사선 치료 등의 추가적인 치료가 행하여진다. 따라서 혈청 전립샘 특이항원이 지속적으로 정상화되지 않거나, 정상화된 후 다시 상승하는 현상을 “생화학적 실패(biochemical failure)”라고 부르고 있다.¹²

진행된 전립샘암종에서는 남성호르몬 비의존성 신경내분비종양 세포가 호르몬 치료에도 불구하고 급속히 성장하기 때문에 예후가 극히 불량한 것으로 알려져 있다. 하지만 최근에는 조기 검진이 활성화되어 대부분 암종이 전립샘에 국한된 단계에서 근치적 전립샘 적출술을 시행한다. 그러므로 국소적 단계에서 근치적 전립샘 적출술을 받은 경우에도 신경내분비세포 분화가 불량한 예후와 관련되어 있는지에 대하여 많은 연구가 이루어져야 하는데, 아직까지 이러한 연구보고는 거의 없는 실정이다.

또한 신경내분비세포 분화를 평가하는 통일된 방법도 없다. Hirano 등¹³은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포의 퍼센트에 따라 양성인 세포가 없을 때 0, 10% 미만일 때 +1, 10-20%일 때 +2, 20% 이상일 때 +3으로 평가하여 분석하였고, Autorino 등¹⁴은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포가 10% 이상일 때 양성군으로 10% 미만일 때 음성군으로 평가하여 분석하였다. Grobholz 등¹⁵은 chromogranin에 양성인 세포가 가장 많은 부위에서 양성 세포가 30개 이상일 때를 고발현, 30개 미만일 때를 저발현으로 평가하여 분석하였다. 이렇게 저자들마다 신경내분비세포 분화를 평가하는 방법이 달라서 일관된 연구결과가 나오지 않고 있는 것이 현실이다. 아울러 전립샘암종에서 신경내분비세포의 존재 여부가 예후에 영향을 미치는 인자인지, 아니면 어느 정도 이상의 신경내분비세포가 발현하여야만 예후에 영향을 미치는 인자인지가 불확실한 상태이다. 만약 어느 정도 이상의 신경내분비세포가 발현하여야만 예후에 영향을 미친다면, 그 구별 수치(cutoff value)를 규명하여야 할 필요성이 있다. 전립샘암종에서 신경내분비 분화가 예

후인자라면, 근치적 전립샘 적출술의 일상적인 병리보고서에 신경내분비 분화에 대한 평가가 추가되어야 할 당위성이 생기게 된다.

저자들은 국소적 단계에서 후치골 근치적 전립샘 적출술을 시행한 전립샘암종 연속 검체를 대상으로 신경내분비세포의 발현과 예후의 관련성을 조사하여 위의 의문점에 해답을 얻고, 한국인 전립샘암종에서 신경내분비세포의 발현 빈도를 조사하여 신경내분비세포의 존재 여부가 예후에 영향을 미치는 인자인지를 규명하고자 하였다. 나아가 신경내분비세포의 발현 정도를 정량적으로 구분하여 분석함으로써 어느 정도 이상의 신경내분비세포가 발현하여야만 예후에 영향을 미치는지를 규명하고자 하였다. 아울러 신경내분비세포의 발현 양상을 유형별로 분석하여 유형에 따른 예후 상관성을 규명하고자 하였다.

재료와 방법

연구 재료 및 임상 자료 수집

2003년 11월부터 2008년 7월까지 분당서울대학교병원에서 후치골 근치적 전립샘 적출술을 받고 병리학적으로 전립샘암종으로 확진된 699예의 연속 검체를 연구 재료로 사용하였다. 근치적 전립샘 적출술을 시행하기 전에 호르몬 치료나 방사선 치료를 받은 예는 연구 대상에서 제외하였다.

수술 전 혈청 전립샘 특이항원은 방사면역측정법(radioimmunoassay)으로 측정하였다. 수술 후 추적 검사를 통하여 생화학적 실패 여부를 조사하였으며, 생화학적 실패는 수술 후 지속적으로 혈청 전립샘 특이항원 수치가 0.2 ng/mL 이상으로 측정되거나, 수술 후 혈청 전립샘 특이항원 수치가 정상화되었다가 다시 0.2 ng/mL 이상으로 상승하는 경우로 정의하였다.¹²

전립샘 적출술 검체의 처리 및 병리학적 평가

전립샘 적출술 검체는 하루 동안 10% 중성 포르말린에 고정하고 전후 좌우를 서로 다른 색의 인디아 잉크로 칠하여 구분한 후, 조직 구축학적(topographic mapping) 방법에 따라 체계적인 절단과 포매를 실시하였다. 고정된 전립샘을 횡단면을 따라 0.3-0.5 cm (평균 0.4 cm) 간격으로 연속 절단하여 횡단면 육안 절편을 만들었다. 전립샘 기저부 절제 면과 첨부 끝의 절제 면을 포함하고 있는 양쪽 육안절편은 시상(sagittal)면을 따라 연속 절단한 후 좌우로 구분하여 절제 면을 평가할 수 있도록 파라핀 블록을 제작하였다. 나머지 육안 절편은 기저부에서 첨부 방향으로 순서대로 포매하였으며, 육안 절편의 크기에 따라 좌우로 양분하거나 4등분하여 파라핀 블록을 제작하였다. 모든 전립샘 적출술 검체는 위의 방법에 따라 모든 절편을 슬라이드로 제작하여 현미경 검사를 실시하였다.

전립샘암종의 병리학적 등급은 글리슨 점수(Gleason score)에 따라 분류하였으며, 글리슨 점수가 6 이하인 경우 분화도가 좋은 종양, 7 이상인 경우 분화도가 나쁜 종양으로 양분하여 통계 처리하였다. 이때 병리학적 병기는 TNM 분류에 따라 병리학적 병기가 pT2인 경우 국소암으로, pT3 및 pT4인 경우 진행암으로 분류하였다. 종양 용적은 조직학적 구축방법을 통하여 전체 절편의 면적 중에서 암종이 차지하는 비율을 구하였는데 병리 슬라이드를 검색하여 맥관 침범과 정맥 침범 및 신경주위 침범과 림프절 전이의 여부를 평가하였다.

면역조직화학검사

신경내분비세포의 발현을 평가하기 위하여 신경내분비세포의 가장 우수한 표지자인 chromogranin¹⁶에 대한 단클론 항체를 이용하여 면역조직화학검사를 시행하였다. 즉 암종이 포함되어 있는 대표적인 파라핀 블록을 하나 선택하여 재박절하고 통상적인 방법에 따라 면역조직화학검사를 시행하였다. 면역조직화학

검사는 labelled streptavidin biotin (LSAB) kit (DAKO, Glostrup, Denmark)를 이용하였고, 일차 항체로는 chromogranin A (1:100, Clone: DAK-A3, Zymed Laboratories, San Francisco, CA, USA)와 Ki-67 (1:100, DAKO, Clone: MIB-1, Glostrup, Denmark)에 대한 단 클론 항체(monoclonal mouse anti-human antibody)를 사용하였다. 이때 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 조직을 3 μ m 두께로 박절하여 슬라이드에 부착하고 자일렌과 에탄올을 이용하여 탈 파라핀과 함수 과정을 거친 후 항원 노출을 위하여 citrate buffer 용액(pH 6.0)에 담가 전자레인지에서 5분간 2회 가열하였다. 내인성 과산화효소의 작용을 차단하기 위하여 3% 과산화 수소액으로 30분간 처리한 후 Tris 완충 용액(pH 7.4)으로 세척하고 정상 혈청으로 20분간 비특이적 결합 반응을 억제시킨 후, 슬라이드에 일차 항체를 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시켰으며, 이차 항체와 streptavidin을 순서대로 실온에서 30분간 반응시켰다. 발색제로는 3,3-diaminobenzidine (DAB)을 사용하였고 헤마톡실린으로 대조 염색한 후 현미경으로 관찰하였다. 음성 대조군으로 일

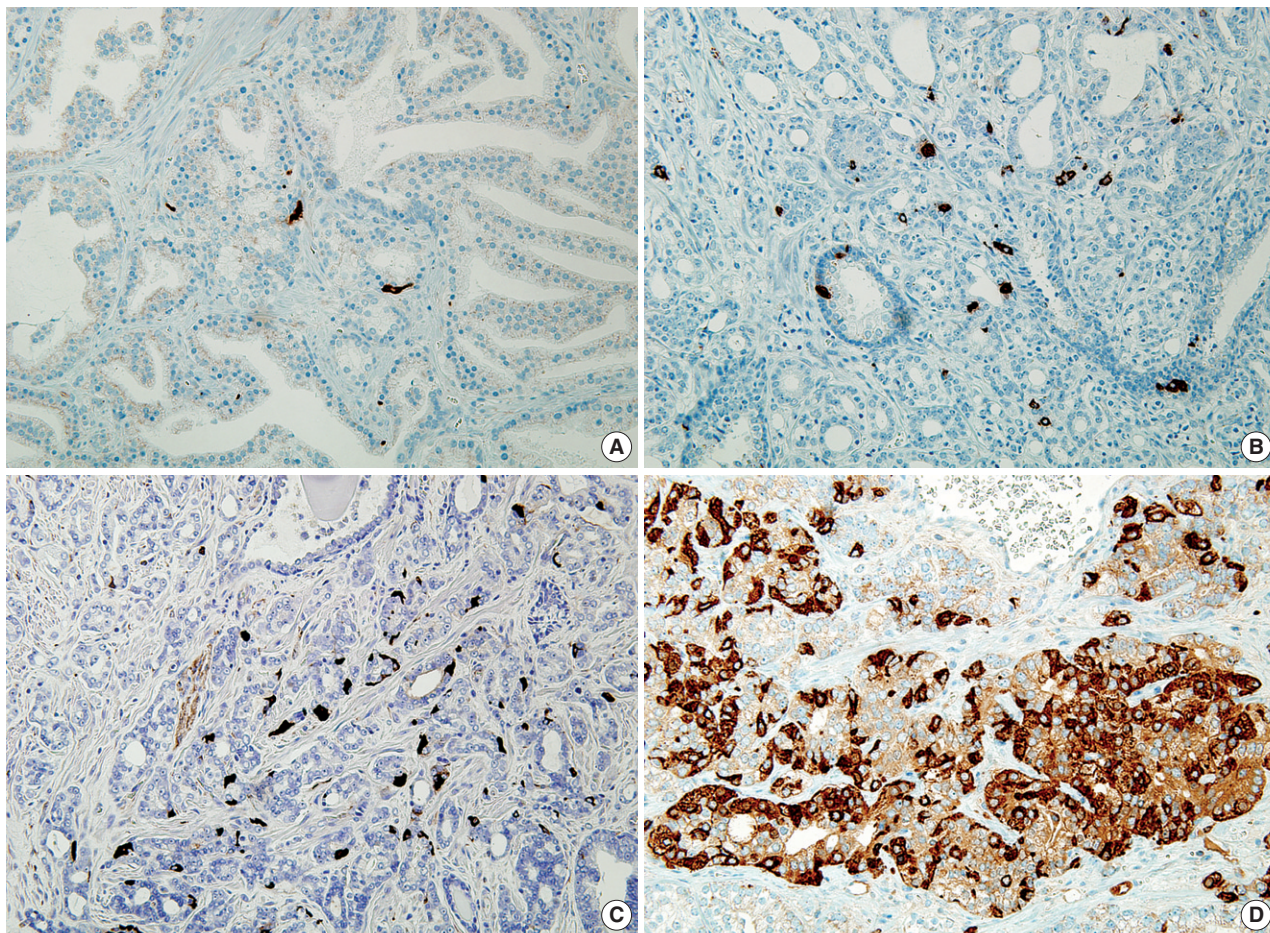


Fig. 1. Immunohistochemical expression of chromogranin in prostatic adenocarcinomas. (A) A few chromogranin-positive neuroendocrine cells are noted. (B) Single scattered neuroendocrine cells with no clusters (pattern 1). (C) Small clusters of neuroendocrine cells (pattern 2). (D) Large clusters of neuroendocrine cells (pattern 3).

차 항체 대신 생리 식염수를 가한 조직을 사용하였고, 양성 대조군으로는 암종 주변의 정상 전립샘 세포를 사용하였다.

면역조직화학검사의 평가

전립샘암종 세포의 신경내분비 분화를 평가하기 위하여 chromogranin에 양성인 암종 세포가 존재하는지 여부를 면밀히 검색한 후, 암종 부위 중에서 chromogranin에 양성인 종양 세포가 가장 많이 분포하는 위치를 선택하여, 광학현미경 100배 시야 (4.52 mm^2)에서 양성세포의 개수를 측정하였다. 정상 전립샘세포나 상피내암종(prostatic intraepithelial neoplasia)에서 chromogranin에 양성인 세포는 확실하게 구분하여 제외하였으며, chromogranin을 발현하는 암종 세포를 신경내분비세포로 평가하였다.

신경내분비세포가 분포하는 유형을 Grobholz 등의 방법에 따라 추가로 분류하였다.¹⁵ 즉, chromogranin을 발현하는 암종 세포가 각개의 세포로 흩어져 있으며 군집을 이루지 않는 경우에는 제1형, 세포 수가 10개 이하의 작은 군집을 이루는 경우에는 제2형, 세포 수가 10개 이상의 커다란 군집을 이루는 경우에는 제3형으로 분류하였다(Fig. 1).¹⁵ 신경내분비세포가 없는 경우는 임의로 제0형으로 구분하였다.

광학현미경 저배율 관찰에서 Ki-67에 양성인 종양 세포가 가장 많이 분포하는 위치를 선택한 후, 400배 현미경 시야에서 관찰되는 세포 중 Ki-67에 양성인 세포의 백분율을 측정하여 종양의 증식 지수(proliferative index, PI)로 판정하였다.

통계학적 분석

전립샘암종에서 신경내분비 분화가 예후에 미치는 영향을 평가하기 위해서는 생존율과의 직접적인 상관성을 조사하여야 하지만, 전립샘암종은 수술 후 예후가 좋은 암종이라서 적어도 10년 이상의 관찰 기간이 필요하다. 본 연구의 대상은 모두 2003년 11월 이후에 수술을 받은 예이기 때문에 관찰 기간이 5년이 되지 않기 때문에 생존율이 의미를 가질 수 없는 상황이다. 따라서 저자들은 생화학적 실패를 생존율 대신 예후의 기준으로 삼았으며, 글리슨 점수와 병리학적 병기 등 기준에 알려진 병리학적 예후인자들과 신경내분비 분화의 상관관계를 분석하였다.

통계프로그램은 SPSS 15.0 K for Windows 프로그램(SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 전립샘 특이항원 수치와 종양 용적 등 연속변수에 대한 통계 분석은 Student's t-test와 ANOVA 등 모수적인 분석방법을 이용하여 이변량 상관관계수에 대한 상관분석을 시행하여 p값(p-value)을 구하였고, 글리슨 점수 등 나머지 비 연속변수에 대한 통계 분석은 비 모수적인 분석방법인 χ^2 test 상관분석을 시행하여 p값을 구하였다. p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 평가하였다.

결 과

전립샘 적출술 699예의 임상 및 병리학적 분석 결과

근치적 전립샘 적출술을 시행받은 699명의 수술 당시 평균 연령은 66.6 ± 6.8 세였으며, 이 중에서 50세 미만은 12명으로 1.7%, 50-59세는 82명으로 11.7%, 60-69세는 343명으로 49.1%, 70세 이상은 262명으로 37.5%를 차지하였다. 수술 전 혈청 전립샘 특이항원 수치의 평균은 $10.8 \pm 12.6 \text{ ng/mL}$ 이었다. 수술

Table 1. Clinicopathologic characteristics of 699 prostatic carcinoma cases

Variables	
Age (years)	
Mean	66.6 ± 6.8
<50	12 (1.7%)
50-59	82 (11.7%)
60-69	343 (49.1%)
≥ 70	262 (37.5%)
Serum PSA (ng/mL)	
Mean	10.8 ± 12.6
Minimum	0.023
Maximum	180.9
Gleason score	
6	179 (25.6%)
7	446 (63.8%)
8	11 (1.6%)
9	63 (9.0%)
Low grade (≤ 6)	179 (25.6%)
High grade (≥ 7)	520 (74.4%)
Pathologic stage	
pT2	479 (68.5%)
pT3	201 (28.8%)
pT4	19 (2.7%)
Localized (pT2)	479 (68.5%)
Advanced (pT3 and pT4)	220 (31.5%)
Lymph node metastasis	
Present	8/461 (1.7%)
Absent	453/461 (98.3%)
Tumor volume (%)	16.8 ± 19.2
<5%	307 (43.9%)
5-10%	254 (36.3%)
>10%	138 (19.7%)
Angiolymphatic invasion	
Present	105 (15.0%)
Absent	594 (85.0%)
Venous invasion	
Present	9 (1.3%)
Absent	690 (98.7%)
Perineural invasion	
Present	417 (59.7%)
Absent	282 (40.3%)
Ki-67 PI (%)	7.5 ± 4.5
Biochemical failure	
Present	76/698 (10.9%)
Absent	622/698 (89.1%)

PSA, prostate-specific antigen; PI, proliferative index.

후 생화학적 실패는 추적 관찰을 시행하지 않은 1예를 제외한 698예 중 76예로 10.9%에서 관찰되었다(Table 1).

근치적 전립샘 적출술 699예의 병리검사 결과 모든 예는 샘 암종이었으며, 신경내분비암종인 소세포암종(small cell carcinoma)은 포함되어 있지 않았다.

전립샘 적출술로 확진된 전립샘암종의 글리슨 점수는 6점이 179예(25.6%), 7점이 446예(63.8%), 8점이 11예(1.6%), 9점이 63예(9.0%)로 구성되어 있었다. 통계처리를 위하여 전립샘 암종의 글리슨 점수를 저등급(6점 이하)과 고등급(7점 이상)으로 양분하였을 때, 저등급 전립샘암종은 179예로 25.6%, 고등급 전립샘암종은 520예로 74.4%였다. 병리학적 병기는 pT2가 479예(68.5%), pT3가 201예(28.8%), pT4가 19예(2.7%)로 구성되어 있었다. 통계처리를 위하여 전립샘암종의 병기를 국소 암(pT2)과 진행암(pT3과 pT4)으로 양분하였을 때, 국소암은 479예로 68.5%이었고 진행암은 220예로 31.5%였다. 림프절 전이는 림프절 박리를 시행한 461예 중 8예(1.7%)에서 관찰되었다. 평균 종양 용적은 $16.8 \pm 19.2\%$ 였다. 맥관 침범은 105예로 15.0%에서, 정맥 침범은 9예로 1.3%에서, 신경주위 침범은 417예로 59.7%에서 각각 관찰되었다(Table 1). Ki-67 증식지수의 평균은 $7.5 \pm 4.5\%$ 였다.

전립샘암증에서 신경내분비 분화

신경내분비세포 분화는 근치적 전립샘적출 검체 699예 중 150예(21.5%)에서 관찰되었다(Table 2). 전립샘암종 세포 중에서 chromogranin을 발현하는 세포가 전혀 발견되지 않는 예는 549예로 78.5%를 차지하였고, 광학현미경 100배 시야(4.52 mm^2)에서 신경내분비 세포가 10개 미만으로 관찰되는 예는 72예(10.3

%), 10개 이상 20개 미만으로 관찰되는 예는 44예(6.3%), 20개 이상으로 관찰되는 예는 34예(4.9%)로 구성되어 있었다. 신경내분비세포가 분포하는 유형을 군집형성 정도에 따라 구분한 Grobholz 등¹⁵의 방법에 따라 분류하면, 신경내분비세포 분화를 보이는 150예 중 군집을 보이지 않는 제1형은 108예로 72.0%, 세포수가 10개 미만의 작은 군집을 이루는 제2형은 33예로 22.0%, 세포수가 10개 이상의 큰 군집을 이루는 제3형은 9예로 6.0%이었다.

신경내분비 분화와 예후인자 및 생화학적 실패와의 상관관계

신경내분비세포의 발현을 보이는 전립샘암종군에서 수술 전 혈청 전립샘 특이항원의 평균 수치는 $12.7 \pm 17.7 \text{ ng/mL}$ 이고, 평균 종양 용적은 $24.0 \pm 23.4\%$ 로, 신경내분비세포 분화가 없는 전립샘암종군에서의 수술 전 혈청 전립샘 특이항원의 평균 수치 $10.3 \pm 10.8 \text{ ng/mL}$, 평균 종양 용적 $14.9 \pm 17.4\%$ 보다 통계적으로 유의하게 증가하였다($p < 0.05$) (Table 2). 림프절 전이는 림프절 박리가 일부에서만 시행되었을 뿐만 아니라, 림프절 전이가 소수(8예/461예; 1.7%)에서만 관찰되어 신경내분비세포 분화가 있는 군과 없는 군 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 찾을 수 없었다. 맥관 침범은 신경내분비세포 분화가 있는 군(40예/150예; 26.7%)에서 신경내분비세포 분화가 없는 군(65예/549예; 11.8%)보다 통계적으로 유의하게 더 흔히 관찰되었으나($p < 0.001$), 정맥 침범은 신경내분비세포 분화가 있는 군(2예/150예; 1.3%)과 없는 군(7예/549예; 1.3%) 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 찾을 수 없었다. 신경주위 침범은 신경내분비세포 분화가 있는 군(115예/150예; 76.7%)에서 신경내분비세포 분화가 없는 군(302예/549예; 55.0%)보다 통계적으로 유의하게 더 관찰되었다($p < 0.001$). 한편, Ki-67 증식지수는 신경내분비세포 분화가 있는 군에서 $10.4 \pm 5.6\%$ 로 신경내분비세포 분화가 없는 군의 $6.7 \pm 3.8\%$ 보다 유의하게 높았다($p < 0.001$). 생화학적 실패는 신경내분비세포 분화가 있는 군에서 17.3% (26예/150예)로 신경내분비세포 분화가 없는 군의 9.1% (50예/549예)보다 유의하게 높게 관찰되었다($p < 0.01$) (Table 2).

요약하면 전립샘암증에서 신경내분비세포의 발현은 생화학적 실패와 혈청 전립샘 특이항원의 높은 수치와 통계적인 상관관계를 보였을 뿐 아니라, 예후인자로 알려진 글리슨 점수, 병리학적 병기, 종양의 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범 및 Ki-67 증식 지수와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다.

신경내분비세포의 분포 유형과 생화학적 실패 및 예후 인자와의 상관관계

Grobholz 등¹⁵의 방법에 따라 신경내분비세포가 분포하는 유

Table 2. Correlation between neuroendocrine differentiation and clinicopathologic prognostic factors

Variables	NE expression (n=150)	No NE expression (n=549)	p-value
Serum PSA (ng/mL)	12.7 ± 17.7	10.3 ± 10.8	0.038*
Gleason score			<0.001†
Low grade	20 (13.3%)	159 (29.0%)	
High grade	130 (86.7%)	390 (71.0%)	
Pathologic stage			<0.001†
Localized	85 (56.7%)	394 (71.8%)	
Advanced	65 (43.3%)	155 (28.2%)	
LN metastasis	4/112 (3.6%)	4/349 (1.1%)	0.102†
Tumor volume (%)	24.0 ± 23.4	14.9 ± 17.4	<0.001*
Angiolymphatic invasion	40 (26.7%)	65 (11.8%)	<0.001†
Venous invasion	2 (1.3%)	7 (1.3%)	0.608†
Perineural invasion	115 (76.7%)	302 (55.0%)	<0.001†
Ki-67 PI (%)	10.4 ± 5.6	6.7 ± 3.8	<0.001*
Biochemical failure	26/150 (17.3%)	50/548 (9.1%)	0.005†

*, Student's t-test; †, χ^2 test.

PSA, prostate-specific antigen; NE, neuroendocrine; LN, lymph node; PI, proliferative index.

Table 3. Correlation among the patterns of neuroendocrine differentiation and clinicopathologic prognostic factors

Variables	Pattern 0 (n=549)	Pattern 1 (n=108)	Pattern 2 (n=33)	Pattern 3 (n=9)	p-value
Serum PSA (ng/mL)	10.3±10.8	10.9±10.2	16.9±31.6	19.0±16.3	0.006*
Gleason score					0.001 [†]
Low grade	159 (29.0%)	15 (14.0%)	5 (15.1%)	0 (0%)	
High grade	390 (71.0%)	93 (86.1%)	28 (84.9%)	9 (100%)	
Pathologic stage					<0.001 [†]
Localized	394 (71.8%)	67 (62.0%)	15 (45.5%)	3 (33.3%)	
Advanced	155 (28.2%)	41 (38.0%)	18 (54.6%)	6 (66.7%)	
Lymph node metastasis	4/349 (1.2%)	4/77 (5.2%)	0/29 (0%)	0/6 (0%)	0.081 [†]
Tumor volume (%)	15.0±17.5	23.0±21.9	22.8±24.9	40.2±31.7	<0.001*
Angiolymphatic invasion	65 (11.8%)	30 (27.8%)	6 (18.2%)	4 (44.4%)	<0.001 [†]
Venous invasion	7 (1.3%)	2 (1.9%)	0 (0%)	0 (0%)	0.845 [†]
Perineural invasion	302 (55.0%)	78 (72.2%)	28 (84.9%)	9 (100%)	<0.001 [†]
Ki-67 PI (%)	6.7±3.8	9.9±5.2	10.5±5.5	16.1±8.0	<0.001*
Biochemical failure	50/548 (9.1%)	18 (16.7%)	5 (15.2%)	3 (33.3%)	0.013 [†]

*, One-Way ANOVA test; [†], χ^2 test.

PSA, prostate-specific antigen; PI, proliferative index.

형을 분석하면, 생화학적 실패와 수술 전 평균 혈청 전립샘 특이항원 수치는 제0형에서 제3형으로 갈수록 통계적으로 유의한 수준으로 증가하였다($p<0.05$) (Table 3). 글리슨 점수, 병리학 적 병기, 종양의 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범 및 Ki-67 증식 지수도 제0형에서 제3형으로 갈수록 통계적으로 유의한 수준으로 더욱 강력한 상관관계를 보였다($p<0.01$) (Table 3). 그러나 림프절 전이와 정맥 침범은 신경내분비세포가 분포하는 유형에 따라 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

요약하면 전립샘암종에서 신경내분비세포의 발현 여부뿐 아니라 발현 유형도, 제0형에서 제3형으로 갈수록, 생화학적 실패 및 여러 예후 인자(혈청 전립샘 특이항원 수치, 글리슨 점수, 병리학 적 병기, 종양의 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범 및 Ki-67 증식 지수)와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다.

신경내분비 분화의 정의 변화에 따른 생화학적 실패 및 예후인자와의 상관관계

서론에서 언급한 바와 같이, 신경내분비세포의 존재 여부가 예후 인자가 아니라 어느 정도 이상의 신경내분비세포가 발현하여야만 예후에 영향을 미치는 인자인지를 규명하기 위하여, 신경내분비 분화를 정의하는 구별 수치(cutoff value)를 몇 가지로 나누어 상관관계 분석을 시도하였다.

광학현미경 100배 시야(4.52 mm^2)에서 관찰되는 신경내분비세포의 수가 10개 이상일 때를 신경내분비 분화로 정의하였을 때, 신경내분비 분화가 있는 전립샘암종군에서 생화학적 실패는 106명 중 17명으로 16.0%인 반면, 신경내분비 분화가 없는 전립샘암종군의 생화학적 실패는 592명 중 59명으로 10.0%이었다. 신경내분비 분화가 있는 전립샘암종군에서 생화학적 실패가 더 흔하게 관찰되었으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않

았다($p>0.05$). 신경내분비 분화를 신경내분비세포의 수가 20개 이상일 때로 정의하였을 때, 신경내분비 분화가 있는 전립샘암종군의 생화학적 실패는 72명 중 12명으로 16.7%인 반면, 신경내분비 분화가 없는 전립샘암종군의 생화학적 실패는 626명 중 64명으로 10.2%이었다. 이 경우에도 역시 신경내분비 분화가 있는 군에서 생화학적 실패가 더 흔하게 관찰되었으나, 10개 이상을 기준으로 정의했을 때와 마찬가지로 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($p>0.05$).

본 연구에서는 문헌에 보고되어 있는 다른 저자의 방법에 따라 신경내분비 분화를 정의하고 분석하고자 하였으나, 적용할 수가 없었다. 즉 Hirano 등¹³은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포의 비율에 따라 양성인 세포가 없을 때 0, 10% 미만일 때 +1, 10-20%일 때 +2, 20% 이상일 때 +3으로 평가하였고, Autorino 등¹⁴은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포가 10% 이상일 때에는 양성군으로, 10% 미만일 때에는 음성군으로 평가하여 분석하였다. 그러나 본 연구에서는 암종 세포 중 chromogranin에 양성인 세포가 10% 이상인 예가 거의 없었기 때문에 Hirano 등이나 Autorino 등이 사용한 분류법을 이용하여 통계분석을 할 수 없었다.

이상의 결과를 요약하면 전립샘암종에서 신경내분비세포의 발현 여부와 발현 유형은 생화학적 실패 및 여러 예후 인자(혈청 전립샘 특이항원 수치, 글리슨 점수, 병리학 적 병기, 종양의 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범 및 Ki-67 증식 지수)와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다. 그러나 광학현미경 100배 시야에서 관찰되는 신경내분비세포의 수가 10개 혹은 20개 이상일 때를 신경내분비 분화로 정의하였을 때에는, 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

고 찰

본 연구에서 신경내분비 분화는 전립샘암종의 21.5% (150예/699예)에서 관찰되었으며, 신경내분비세포가 분포하는 유형은 군집을 보이지 않는 제1형이 72.0%, 작은 군집을 이루는 제2형이 22.0%, 큰 군집을 이루는 제3형이 6.0%로 분포하였다. 전립샘암종에서 신경내분비세포의 발현 여부와 발현 유형은 생화학적 실패 및 여러 예후인자(혈청 전립샘 특이항원 수치, 글리슨 점수, 병리학적 병기, 종양의 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범 및 Ki-67 증식 지수)와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다.

신경내분비세포는 기저세포 및 외분비세포와 더불어 전립샘을 구성하는 세 번째로 많은 세포이다.⁵ 신경내분비세포는 chromogranin, serotonin, NSE (neuron-specific enolase) 등을 분비하여 전립샘의 성장, 발달 및 분화에 작용하고 성숙한 샘상피의 분비를 조절하는 것으로 알려져 있다.¹⁷ 또한 신경내분비세포는 샘상피를 전립샘암종으로 악성 이행시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다.⁶

신경내분비세포 분화는 다른 장기에 생기는 샘암종보다 전립샘의 샘암종에서 더욱 흔하게 발생하며, 전립샘암종의 30-100%가 신경내분비세포 분화를 보인다고 보고되어 있다.^{5,8,9} 본 연구에서 신경내분비세포의 분화는 전립샘암종의 21.5%에서 관찰되어 이전에 보고된 30-100%보다 낮은 비율로 관찰되었다. 이렇듯 보고마다 차이가 생기는 것은 Abrahamsson이 언급했듯이 검체의 종류(생검 혹은 절제술 검체), 고정 of 종류와 정도, 사용된 항체 등 여러 가지 요소가 작용하는 것으로 보인다.⁴ 본 연구에서는 임상적으로 암종이 전립샘에 국한되어 있을 것으로 추정되어 근치적 절제술이 시도된 적립샘 적출술 검체를 연구 대상으로 하였기 때문에, 신경내분비세포의 발현 비율이 상대적으로 낮게 나타난 것이라고 평가할 수 있다. 본 연구가 호르몬 치료에 내성을 보이는 남성호르몬 비의존성 전립샘암종을 대상으로 한 것이 아니라 전립샘 적출술 검체를 연구 대상으로 하였다는 점을 감안한다면, 국소적 전립샘암종의 1/5 이상에서 신경내분비 분화가 관찰된다는 사실은 신경내분비 분화가 전립샘암종의 발생과 진행에 커다란 영향을 미칠 수 있는 잠재성을 보여준다고 할 수 있다.

많은 연구에서 전립샘암종의 신경내분비세포 분화가 불량한 예후와 관련이 된다고 보고하였으며,⁴⁻⁷ 본 연구에서도 신경내분비세포의 발현 유무가 이미 널리 알려진 예후 인자인 글리슨 점수, 병리학적 병기, 종양 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범, Ki-67 증식 지수와 통계적으로 유의한 관련성을 보였다. 전립샘암종은 전체 검체의 1.3%에서 드물게 관찰되었기 때문에 통계적으로 유의한 결과를 얻을 수 없었으나, 전립샘암종의 신경내분비 분화는 병리학적 예후인자 외에도 생화학적 실패 및 수술 전 혈청 전립샘 특이항원의 높은 수치와 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다. 본 연구의 결과는 기존의 연구 보고와 일치하는 결과이며, 한국인의 전립샘암종에서도 신경내분비세포 분화가 불량한 예후와 관련이 된다고 평가할 수 있는 근거가 된다고 평가한다.

신경내분비세포의 분포 유형을 신경내분비세포의 군집 형태에 따라 세분하여 분류하였을 때에도, 수술 전 혈청 전립샘 특이항원의 수치, 글리슨 점수, 병리학적 병기, 종양 용적, 맥관 침범, 신경주위 침범, Ki-67 증식 지수 및 생화학적 실패가 신경내분비세포의 군집 형태에 따라 유의한 차이를 보이는 것을 관찰하였다. 이는 신경내분비세포의 발현 유무뿐만 아니라 군집 형태도 예후와 밀접한 관계가 있다는 것을 보여주는 결과이다. 따라서 근치적 전립샘 적출술 검체의 병리보고서에 기존에 알려진 병리학적 예후 인자뿐 아니라 신경내분비세포의 발현 여부와 발현 유형에 대해 기술하는 것이 향후 환자의 예후 예측과 치료에 도움을 줄 수 있다고 생각한다.

현재까지 chromogranin의 발현을 평가하는 통일된 방법은 없다. Hirano 등¹³은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포의 비율에 따라 양성인 세포가 없을 때 0, 10% 미만일 때 +1, 10-20%일 때 +2, 20% 이상일 때 +3으로 평가하여 분석하였고, Autorino 등¹⁴은 종양 세포 중에서 chromogranin에 양성인 세포가 10% 이상일 때에는 양성군으로 10% 미만일 때에는 음성군으로 평가하여 분석하였다. 본 연구에서는 암종 세포 중 chromogranin에 양성인 세포가 10% 이상인 예가 거의 없었기 때문에 Hirano 등이나 Autorino 등이 사용한 분류법을 이용하여 통계분석을 할 수 없었다. Hirano 등의 연구는 호르몬 치료에 내성을 보이는 남성호르몬 비의존성 전립샘암종을 대상으로 한 것이기 때문에, 신경내분비세포의 발현이 매우 증강된 예가 선택된 결과라고 판단한다. 이에 반해 본 연구에서는 다른 선행 치료 없이 근치적 적립샘 적출술을 받은 전립샘암종 예를 연구 대상으로 하였기 때문에, 전립샘암종의 자연사(natural history)에서 신경내분비 분화의 중요성을 평가하는 데 더 좋은 연구모델이라고 생각한다.

본 연구에서 저자들은 chromogranin에 양성인 암종 세포가 고르지 않게 분포하는 것을 관찰하였고, 가장 많은 수가 염색된 부위를 골라 양성 세포의 개수를 세어 분석하였다. 본 연구에서는 chromogranin 양성세포가 상피내암종이나 정상 전립샘의 세포가 아니라 확실한 암종 세포로 확인할 수 있는 경우에는 chromogranin을 발현하는 암종 세포가 하나 이상 관찰되면, 신경내분비세포 분화가 있는 것으로 평가하였다. 이 기준을 적용하였을 때 전립샘암종에서 신경내분비 분화는 생화학적 실패 및 여러 예후인자와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다. 이에 반해 광학현미경 100배 시야에서 관찰되는 신경내분비세포의 수가 10개 혹은 20개 이상일 때를 신경내분비 분화로 정의하였을 때에는, 이 기준에 의한 신경내분비 분화는 생화학적 실패 및 여러 예후인자와 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 이 결과를 바탕으로 추론하면, 어느 정도 이상의 신경내분비세포가 발현하여야만 신경내분비 분화가 예후 인자로 작용한다기보다는, 비록 소수이더라도 신경내분비세포가 발현하는 것이 중요한 의미를 갖는다고 평가할 수 있다. 본 연구에서 암종 조직 전체에 대해 면역조직화학검사를 시행한 것이 아니라 대표적인 하나

의 파라핀 블록을 선택하여 신경내분비세포의 발현을 분석하였다는 점을 감안한다면, 소수의 신경내분비세포 발현도 무의미한 것이 아님을 추정할 수 있다.

전립샘암종에서 신경내분비 분화의 중요성이 강조되고 있으나, 신경내분비세포를 평가한 연구 중 본 연구만큼 많은 예를 대상으로 한 연구는 전 세계적으로도 찾아보기 힘들다는 점에서 본 연구의 가치가 높다고 평가할 수 있다. Autorino 등¹⁴이 전립샘암종으로 근치적 전립샘 적출술을 시행한 110예를 대상으로 연구한 보고에 의하면, 신경내분비세포 분화와 생화학적 실패가 연관성은 있지만 통계적으로 유의한 결과를 얻지 못했는데 이는 신경내분비세포 분화를 평가하는 방법의 차이와 표본크기의 차이 때문으로 해석된다. 신경내분비세포 분화를 평가하는 기준이 다르기는 하지만, 본 연구에서는 연구대상의 수가 699예로 표본크기가 충분하였기 때문에, 신경내분비세포의 발현 여부와 발현 유형이 생화학적 실패 및 여러 예후인자와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다고 판단된다.

전립샘암종의 예후와 관련된 연구를 하기 위해서는 예후를 가장 잘 반영하는 생존율을 조사하여야 하지만, 최근 국내에서 전립샘암종의 5년 생존율이 70.6%¹⁸로 보고될 정도로 예후가 매우 좋은 암종이므로 전립샘암종의 생존율을 조사하기 위해서는 적어도 10년 이상의 관찰 기간이 필요하며, 전립샘에 국한된 국소암종인 경우에는 15년 이상의 관찰 기간이 필요하다고 평가되고 있다.¹⁹ 본 연구의 대상은 모두 2003년 11월 이후에 수술을 받은 예이기 때문에 관찰 기간이 짧아 생존율이 의미를 가질 수 없는 상황이어서 생화학적 실패를 생존율 대신에 예후의 기준으로 삼았다. 수술 후 추가적인 호르몬 치료에도 불구하고 암종이 재발하는 것은 신경내분비세포가 증가하여 생긴 호르몬 불응성 암종이 재발한 경우라고 알려져 있다. 임상적으로 암종이 전립샘에 국한되어 있을 것으로 추정되어 근치적 절제술이 시도된 전립샘 적출술 검체를 연구 대상으로 한 본 연구를 바탕으로, 저자는 신경내분비세포의 발현이 호르몬 불응성 암종의 재발과 실제로 연관되어 있는지에 대해 장기간 추적 관찰을 계속할 예정이다.

후치골 근치적 전립샘 적출술을 시행한 예에서 전립샘암종의 신경내분비 분화 여부와 발현 유형은 생화학적 실패 및 여러 예후인자와 통계적으로 유의한 강한 상관관계를 보였다. 따라서 근치적 전립샘 적출술 예를 진단할 때에는 chromogranin에 대한 면역조직화학검사를 통해 신경내분비세포의 발현여부와 발현 유형(군집 형태)를 평가해 주는 것이 필요할 것이다.

참고문헌

1. Korea National Statistical Office. The cause of death statistics (deaths and death rates). 2008.
2. Raghavan D. Non-hormone chemotherapy for prostate cancer: principles of treatment and application to the testing of new drugs. *Semin Oncol* 1988; 15: 371-89.
3. Crawford ED, Eisenberger MA, McLeod DG, *et al.* A controlled trial of leuprolide with and without flutamide in prostatic carcinoma. *N Engl J Med* 1989; 321: 419-24.
4. Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Prostate* 1999; 39: 135-48.
5. di Sant' Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the prostate: diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer* 1992; 70(1 Suppl): 254-68.
6. di Sant' Agnese PA, Cockett AT. Neuroendocrine differentiation in prostatic malignancy. *Cancer* 1996; 78: 357-61.
7. di Sant' Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: an update. *Prostate Suppl* 1998; 8: 74-9.
8. di Sant' Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in human prostatic carcinoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 287-96.
9. Abrahamsson PA, di Sant' Agnese PA. Neuroendocrine cells in the human prostate gland. *J Androl* 1993; 14: 307-9.
10. Bonkhoff H. Neuroendocrine cells in benign and malignant prostate tissue: morphogenesis, proliferation, and androgen receptor status. *Prostate Suppl* 1998; 8: 18-22.
11. Krijnen JL, Janssen PJ, Ruizeveld de Winter JA, van Krimpen H, Schroder FH, van der Kwast TH. Do neuroendocrine cells in human prostate cancer express androgen receptor? *Histochemistry* 1993; 100: 393-8.
12. Djavan B, Moul JW, Zlotta A, Remzi M, Ravery V. PSA progression following radical prostatectomy and radiation therapy: new standards in the new Millennium. *Eur Urol* 2003; 43: 12-27.
13. Hirano D, Okada Y, Minei S, Takimoto Y, Nemoto N. Neuroendocrine differentiation in hormone refractory prostate cancer following androgen deprivation therapy. *Eur Urol* 2004; 45: 586-92.
14. Autorino R, Lamendola MG, De Luca G, *et al.* Neuroendocrine immunophenotype as predictor of clinical recurrence in 110 patients with prostate cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2007; 20: 765-70.
15. Grobholz R, Griebel M, Sauer CG, Michel MS, Trojan L, Bleyl U. Influence of neuroendocrine tumor cells on proliferation in prostatic carcinoma. *Hum Pathol* 2005; 36: 562-70.
16. Isshiki S, Akakura K, Komiya A, Suzuki H, Kamiya N, Ito H. Chromogranin a concentration as a serum marker to predict prognosis after endocrine therapy for prostate cancer. *J Urol* 2002; 167: 512-5.
17. Xing N, Qian J, Bostwick D, Bergstralh E, Young CY. Neuroendocrine cells in human prostate over-express the anti-apoptosis protein survivin. *Prostate* 2001; 48: 7-15.
18. Jung KW, Yim SH, Kong HJ, *et al.* Cancer survival in Korea 1993-2002: a population-based study. *J Korean Med Sci* 2007; 22(Suppl): S5-S10.
19. Park MS. Natural history of prostate cancer. In: Lee SE, ed. *Prostate cancer*. Seoul: Hyomoomsa, 2000; 71-80.